

REC'D 23 SEP 2003

WIPO PAT



별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto is a true copy from the records of the Korean Intellectual Property Office.

출원 번호 : 10-2003-0042189
Application Number

출원 년 월 일 : 2003년 06월 26일
Date of Application JUN 26, 2003

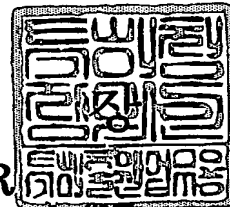
출원 인 : 정문웅
Applicant(s) Jung Mun Yhung



2003 년 09 월 02 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.06.26
【발명의 명칭】	아크릴아미드 생성 억제방법
【발명의 영문명칭】	Method for the reduction of acrylamide formation
【출원인】	
【성명】	정문웅
【출원인코드】	4-1999-024046-8
【대리인】	
【성명】	김석현
【대리인코드】	9-1998-000634-1
【포괄위임등록번호】	2003-040498-7
【발명자】	
【성명】	정문웅
【출원인코드】	4-1999-024046-8
【우선권주장】	
【출원국명】	KR
【출원종류】	특허
【출원번호】	10-2003-0000391
【출원일자】	2003.01.03
【증명서류】	미첨부
【심사청구】	청구
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인 김석현 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	20 면 29,000 원
【가산출원료】	8 면 8,000 원
【우선권주장료】	1 건 26,000 원
【심사청구료】	14 항 557,000 원

020030042189

출력 일자: 2003/9/9

【합계】	620,000 원
【감면사유】	개인 (70%감면)
【감면후 수수료】	204,200 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 아크릴아미드 생성 억제방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민($-NH_3^+$)으로 전환시키는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제방법에 관한 것이다. 본 발명에 따른 방법은 pH 강하제를 처리하는 간단한 방법에 의해서 아크릴아미드의 생성을 높은 수준으로 억제할 수 있는 효과가 있다. 특히, 본 발명에 따른 방법을 식품에 적용할 경우, 식품의 풍미와 색상에는 영향을 주지 않으면서도, 아크릴아미드의 생성을 높은 수준으로 억제할 수 있는 효과가 있다.

【대표도】

도 1

【색인어】

아크릴아미드, pH 강하제, 친핵성 아미노기, 비친핵성 아민

【명세서】**【발명의 명칭】**

아크릴아미드 생성 억제방법{Method for the reduction of acrylamide formation}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 아스파라긴과 포도당의 혼합물을 가열 처리할 때 생성된 아크릴아미드의 GC-MS 크로마토그램이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

- ◇ 본 발명은 아크릴아미드 생성 억제방법에 관한 것이다. 보다 상세하게는 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-\text{NH}_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민($-\text{NH}_3^+$)으로 전환시키는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제방법에 관한 것이다.
- ◇ 무색의 투명 결정체인 아크릴아미드(Acrylamide)는 120°C 이상의 고온에서 음식을 튀기거나 굽는 공정을 통해 발생하는 물질이다. 상기 아크릴아미드는 세계보건기구(WHO) 산하의 국제암연구위원회(IRAC)에 의해 1994년부터 가능성이 있는 발암물질로 지정되었다(IRAC. Acrylamide, 60, 389, 1994). 문헌에는 래트나 초파리에서 암을 일으킨다고 보고되어 있으며, 특히 아크릴아미드에 장시간 노출된 래트나 마우스의 부신과 고환에 암을 일으키는 것으로 알려져 있다. 따라서, 아크릴아미드는 인간에게도 암을 일으킬 가

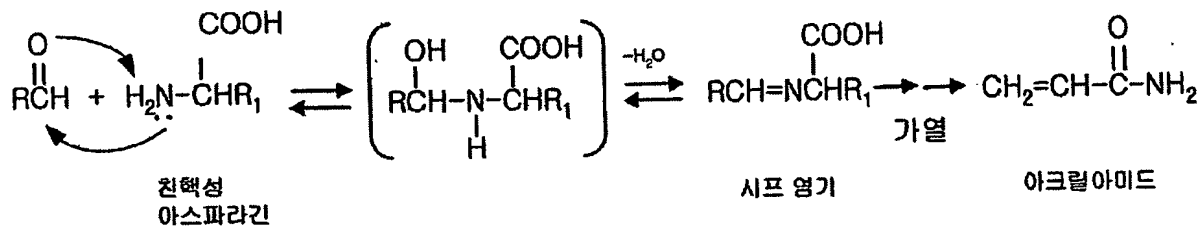
능성이 매우 높은 발암물질의 하나로 여겨지고 있다. 또한, 아크릴아미드는 동물과 인간의 신경계에 독성을 나타내기도 한다. 2002년 4월 스웨덴의 톤퀴스트 연구팀은 고온에서 가공한 크리스프와 비스킷에서 WHO의 권장치보다 매우 높은 수준의 아크릴아미드가 함유되어 있음을 최초로 발표하였다(E. Tareke et al., *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4998-5006, 2002). 그 후 유럽, 미국 및 일본에 이어 2002년 12월에는 우리나라에서도 8종의 식품에서 아크릴아미드가 검출되었다. 우리나라 식품의약품안전청의 의뢰로 "가열식품의 아크릴아미드 함유 연구"를 수행한 이화여대 식품영양학과 오상석 교수팀은 10종의 공시상품 중 8종에서 아크릴아미드를 검출하였고, 그 검출량은 감자튀김(프렌치 후라이) 341~1869ppb, 감자칩 854~1081ppb, 시리얼 51~283ppb, 비스킷 115~241bbp, 인스턴트 커피분말 160~220ppb, 초콜릿 47~63ppb, 식빵과 도넛과 같은 빵 종류의 경우 30~36bbp가 검출되었다. 그러나, 생감자와 밥에서는 아크릴아미드가 검출되지 않았다.

<4> 아크릴아미드의 생성 기작과 관련하여, 영국 리딩대학의 도날드 모트램 교수팀과 스위스 네슬러 연구소 리터드 스타들러 박사팀은 특정 아미노산과 당분을 높은 온도에서 같이 구울 때 아크릴아미드가 생성된다고 보고한 바 있다. 나아가, 두 연구팀은 아크릴아미드가 메일라드 반응의 스트래커 분해 메카니즘(Strecker degradation mechanism)에 의해 생성된다고 밝혔다(D. S. Mottram et al., *Nature*, 419, 448-449, 2002; R. H. Stadler et al., *Nature*, 419, 449-450, 2002).

<5> 상기 스트래커 분해 메카니즘은 아스파라긴의 α -아미노산($-NH_2$)에 존재하는 비결합 전자쌍(unpair electron)인 친핵성 전자가 다이카보닐 화합물의 알데히드기에 존재하는 카아보닐 탄소(carbonyl carbon)에 친핵적 공격을 가함으로써 개시된다. 상기 다이카보닐 화합물은 포도당과 같은 단일 카보닐 화합물이 아미노 그룹과 반응한 후 분해되어 생성

된 것이다. 상기와 같이 반응이 개시되면, 시프 염기 (Schiff base)가 생성되고, 이 시프 염기에서 탈탄산 반응(decarboxylation) 및 탈아미노 반응(deamination)이 일어나 아크릴아미드가 생성된다(반응식 1 참조).

<6> 【반응식 1】



<7>

상기 식에서 R_1 은 $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ 이다.

<8> 한편, 메일라드 반응은 식품의 향과 맛을 좋게 하기 때문에, 수십 년 동안 식품회사들이 과자, 칩 및 빵 등을 제조할 때 즐겨 사용하던 가공방법 중 하나이며, 현재도 가장 많이 사용되고 있는 식품의 가공방법이다. 그러나, 메일라드 반응은 상기에서 언급한 바와 같이, 식품 내 아크릴아미드의 생성을 유도하게 된다. 예를 들어, 과자류를 제조할 때 170~180℃로 가열하게 되면 포도당과 같은 환원당류들이 아미노산 등과 반응한 후 분해되어 다이카보닐화합물을 형성하고, 이 다이카보닐화합물이 아스파라긴과 반응하여 아크릴아미드가 생성된다. 일반적으로, 빵과 과자를 구울 때 오븐의 가열온도가 약 170℃ 이상이며, 감자 튀김과 칩의 제조시 고온에서 기름에 튀기기 때문에 아크릴아미드의 생성이 용이하게 된다.

<9> 그러나, 현재까지 아크릴아미드의 생성을 억제하는 방법으로는 단지 식품을 가공할 때 낮은 온도에서 가열처리하며 음식을 찌거나 삶아 섭취하는 방법이 가장 효과적이라고 알려져 있을 뿐이다. 미국 식품의약국(FDA)에서도 120℃ 이하에서 가열된 음식에서는 아크릴아미드가 검출되지 않으므로 음식을 고온에서 장시간 튀기거나 굽지 말라고 권고하고 있다. 따라서, 지금까지 식품을 120℃ 이상의 고온에서 가공할 때 생성되는 아크릴아미드의 생성 자체를 효과적으로 억제할 수 있는 방법이 개발되어 있지 않은 실정이다.

<10> 이에 본 발명자들은 아크릴아미드의 생성을 효과적으로 감소시키기 위한 방법을 연구하던 중 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민($-NH_3^+$)으로 전환시키면 아크릴아미드의 생성이 효과적으로 억제됨을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<11> 따라서, 본 발명의 목적은 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민($-NH_3^+$)으로 전환시키는 단계를 포함하는 아크릴아미드 생성 억제방법을 제공하는 것이다.

<12> 본 발명의 다른 목적은 pH 강하제를 처리하여 아스파라긴의 친핵성 아미노기를 양성화하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제방법을 제공하는 것이다.

<13> 본 발명의 다른 목적은 식품에 pH 강하제를 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드의 생성 억제방법을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

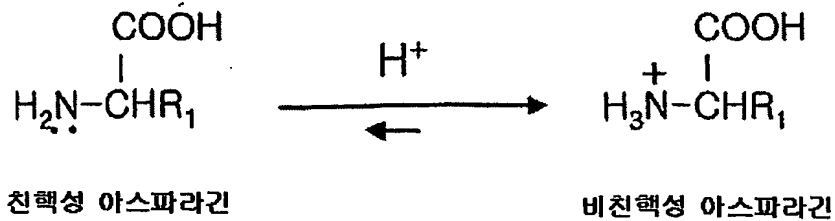
<14> 상기와 같은 본 발명의 목적을 달성하기 위해서, 본 발명은 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민($-NH_3^+$)으로 전환시키는 단계를 포함하는 아크릴아미드 생성 억제방법을 제공한다.

<15> 또한, 본 발명은 상기 친핵성 아미노기의 양성자화를 위해 pH 강하제를 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법을 제공한다.

<16> 또한, 본 발명은 식품에 pH 강하제를 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드의 생성 억제방법을 제공한다.

<17> 본 발명에 따른 아크릴아미드의 생성 억제방법은 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)를 양성자화하여 비친핵성 아민(non-nucleophilic protonated amine, $-NH_3^+$)으로 전환시킴으로써 비결합 전자쌍인 친핵성 전자가 다이카보닐 화합물의 알데히드기와 반응하지 못하게 되어 시프 염기(Schiff base)의 생성이 억제되며, 궁극적으로는 아크릴아미드의 생성이 억제될 것이라는 원리를 기초로 한 것이다(반응식 2 참조).

<18> 【반응식 2】



<19>

상기 식에서 R₁은 $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ 이다

<20> 따라서, 본 발명은 아스파라긴의 친핵성 아미노기(-NH₂)를 양성자화하여 비친핵성 아민(-NH₃⁺)으로 전환시키는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제방법을 제공한다.

<21> 상기에서 친핵성 아미노기의 양성자화는 pH 강하제를 처리함으로써 수행될 수 있다.

<22> 또한, 본 발명에 따른 아크릴아미드 생성 억제 방법은 아크릴아미드가 생성됨으로써 유해한 영향을 줄 수 있는 모든 종류의 산업분야에 적용될 수 있다. 바람직하게는, 식품 또는 화장품에 적용될 수 있으며, 더욱 바람직하게는 식품에 적용될 수 있다. 따라서, 본 발명은 상기 pH 강하제를 식품에 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법을 제공한다.

<23> 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제 방법을 식품에 적용할 경우, pH 강하제의 처리는 식품을 가열 처리하기 전에 처리하는 것이 바람직하다.

- <24> 상기에서 "가열 처리"는 특별히 한정되지 않으며, 고온에서 열을 가해 처리하는 모든 종류의 식품 가공 방법을 포함한다. 바람직하게는, 120℃ 이상의 고온에서 식품을 가공하는 방법을 말하며, 예를 들어, 튀기기, 굽기, 볶기, 고온 압출 및 고온 사출 처리 등이 포함된다.
- <25> 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제 방법을 적용할 수 있는 식품으로는 가열 처리에 의해 아크릴아미드가 생성될 수 있는 모든 종류가 포함된다. 바람직하게는, 아미노산과 당분 등의 성분을 함유하고 있어, 가열 처리에 의해 아스파라긴의 아미노기에 존재하는 비결합 전자쌍이 다이카보닐 화합물의 알데히드기에 존재하는 카아보닐 탄소를 친핵적으로 공격하여 시프 염기가 생성되고 이로부터 아크릴아미드가 생성될 가능성이 있는 식품을 말한다. 보다 바람직하게는, 탄수화물 식품이 포함된다. 상기 탄수화물 식품으로는 예를 들면, 이에 한정되지는 않으나 감자튀김, 라면, 비스킷, 빵, 콘칩, 감자칩, 콘플레이크, 감자 크리스프 및 시리얼 및 이를 제조하기 위한 식품 원료 등을 들 수 있다.
- <26> 본 발명에서 "pH 강하제"는 pH를 저하시킬 수 있는 첨가제를 말한다. 상기 pH 강하제를 식품에 처리할 경우에는 식품 관련기관으로부터 식품첨가물용으로 인정받은 것을 사용하는 것이 바람직하다.
- <27> 상기 pH 강하제를 식품에 처리할 경우, 식품이 원래 가지고 있던 pH 또는 종래 식품의 가공 공정에서의 pH 보다 저하시킬 수 있는 정도로 처리하는 것이 바람직하다. 보다 바람직하게는, 식품이 원래 가지고 있는 pH 보다 0.1~3 정도가 저하되도록 처리한다. 가장 바람직하게는 식품이 원래 가지고 있는 pH 보다 0.5~2 정도가 저하되도록 처리한다.

이를 위해 상기 pH 강하제는 식품에 약 0.01~10.0 중량%의 농도로 첨가한다. 가장 바람직하게는, 약 0.02~2.0 중량%의 농도로 첨가한다.

<28> 상기 pH 강하제로는 유기산, 유기산염, 유기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액, 무기산, 무기산 염, 무기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액, 과즙 및 이들의 혼합물 중에서 선택하여 사용할 수 있다. 상기 유기산으로는 예를 들어, 구연산, 사과산, 초산, 젖산, 호박산, 주석산, 아스코르브산 및 아디핀산 등을 사용할 수 있다. 바람직하게는 구연산을 사용할 수 있다. 상기 무기산으로는 예를 들어, 인산 또는 피로인산 등을 사용할 수 있다. 상기 유기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액으로는 구연산-구연산나트륨 완충용액 등을 사용할 수 있다. 상기 무기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액으로는 인산나트륨 또는 인산칼륨 완충용액 등을 사용할 수 있다. 상기 과즙으로는 유기산 함량이 높은 레몬, 매실, 살구, 유자 및 라임 등을 사용할 수 있다. 이외에도 상기 pH 강하제로는 한국식품의약품안전청(KFDA) 또는 미국식품의약품안전청(FDA)과 같은 세계 각국의 식품 관련기관에서 식품첨가물로 공인된 모든 종류의 유기산, 무기산, 이들의 염 또는 상기 산 또는 염을 함유하는 완충용액 등을 사용할 수 있다.

<29> 본 발명의 일 실시예에서는 pH를 강하시킴으로써 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-NH_2$)가 비친핵성 아민($-NH_3^+$)으로 전환되어, 아크릴아미드의 생성이 억제될 수 있는지를 조사하였다. 이를 위해 본 발명자들은 pH 4.0~8.0의 인산나트륨 완충액에 아스파라긴과 포도당을 첨가하고 150℃ 오븐에서 20분간 가열하여 아크릴아미드 생성 실험을 실시한 후 pH의 변화에 따른 아크릴아미드의 생성량을 측정하였다. 실험 결과, pH가 낮을수록 아크릴아미드의 생성량도 감소됨을 확인할 수 있었다. 특히, pH가 5.0 또는 4.0일 때

아크릴아미드의 생성 억제율이 96.8% 또는 99.1%로 나타나 매우 높은 수준으로 아크릴아미드의 생성이 억제됨을 알 수 있었다(실시예 1 참조).

<30> 본 발명의 다른 실시예에서는 콘칩의 원료인 콘 글리츠에 0.1% 또는 0.2% 구연산 용액 500mL를 첨가하여 pH를 저하시킨 후 180℃의 기름에 후라이한 다음 콘칩 내에 생성된 아크릴아미드 양을 측정하였다. 그 결과, 구연산 용액을 첨가하지 않은 대조군에 비해 구연산 용액을 첨가한 경우에 아크릴아미드의 생성이 크게 억제됨을 확인할 수 있었다. 또한, 구연산의 첨가 농도가 높을수록 아크릴아미드의 생성 억제율이 증가하여 아크릴아미드의 생성량이 대조군에 비해 82.4%까지 억제됨을 확인할 수 있었다(실시예 2 참조). 구연산의 첨가에 의한 풍미 변화는 거의 없었으며, 구연산의 첨가농도가 증가할수록 색상이 약간 밝아지는 경향이 관찰되었다(실시예 3 참조).

<31> 또한, 본 발명의 다른 실시예에서는 콘칩의 원료인 콘 글리츠에 0.1% 또는 0.2% 구연산 용액 500mL를 첨가함으로써 pH를 저하시킨 후 121℃에서 60분간 스티밍한 다음 225℃ 오븐에서 1분 40초 또는 2분간 가열한 후 콘칩 내에 생성된 아크릴아미드의 양을 측정하였다. 그 결과, 구연산 용액을 첨가하지 않은 대조군에 비해 구연산 용액을 첨가한 경우에 아크릴아미드의 생성이 크게 억제됨을 확인할 수 있었다. 또한, 구연산의 첨가 농도가 높을수록 아크릴아미드의 생성 억제율이 증가되어 아크릴아미드의 생성량이 대조군에 비해 72.8%까지 억제됨을 확인할 수 있었다(실시예 4 참조). 제조된 콘칩의 풍미와 색상은 대조군과 비교할 때 거의 차이가 없었다(실시예 5 참조).

<32> 본 발명의 다른 실시예에서는 감자 튀김의 원료인 감자를 1% 또는 2% 구연산

용액에 침지시킨 후 190℃ 기름에서 6분 30초간 튀겨서 감자튀김을 제조하고 생성된 아크릴아미드의 양을 측정하였다. 실험 결과, 대조군에 비해 감자를 구연산 용액에 침지시킨 경우 아크릴아미드의 생성 억제율이 73.1% 및 79.7%로 나타나 구연산에 의해 아크릴아미드의 생성이 크게 억제되었음을 확인할 수 있었다(실시예 6 참조).

<33> 따라서, 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제방법은 pH 강하제를 처리하는 간단한 방법으로 아크릴아미드의 생성을 효과적으로 억제할 수 있는 특징이 있다. 특히, 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제방법을 식품에 적용할 경우, 식품의 풍미와 색상에는 영향을 주지 않으면서도, 식품 내 아크릴아미드의 생성을 효과적으로 억제할 수 있는 특징이 있다.

<34> 이하, 본 발명의 구체적인 방법을 실시예를 들어 상세히 설명하고자 하지만 본 발명의 권리범위는 이들 실시예에만 한정되는 것은 아니다.

<35> <실시예 1>

<36> pH에 따른 아크릴아미드 생성억제 정도

<37> 본 발명자들은 pH를 강하시킴으로써 아스파라긴의 친핵성 아미노기($-\text{NH}_2$)가 비친핵성 아민($-\text{NH}_3^+$)으로 전환되어 아크릴아미드의 생성이 억제될 수 있는지를 조사하였다.

<38> 이를 위해 다양한 pH 범위(pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0)를 가지는 0.1M 인산나트륨 완충용액 1mL(단, pH 4.0은 0.2M 인산나트륨 완충용액으로 조정)에 아스파라긴 0.5mmol,

포도당 0.5mmol을 첨가하여 용해한 다음, 이를 미니 바이알에 넣어 밀봉하고 150℃의 오븐에서 30분간 가열하여 아크릴아미드를 생성시켰다. 가열 처리가 완료된 시료를 냉각시킨 다음 브롬화 아크릴아미드를 검출 지표로 사용하여 타레케 등의 방법(E. Tareke et al., *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4998-5006, 2002; E. Tareke et al., *...*, 13, 517-522, 2000)에 따라 GC-MS(PERKIN ELMER Autosystem XL Gas Chromatograph, Turbomass Mass Spectrometer)로 아크릴아미드의 생성량을 분석하였다.

<39> 즉, 상기 시료에 증류수 20mL와 내부 표준물질인 N-N-디메틸아크릴아미드 1~8μg을 가하여 용해하였다. 이를 별도의 용기에 옮겨 25mL로 정용하고 캐슬 등의 방법(L. Castle et al., *J. Sci. Food Agric.*, 54, 549-551, 1991; U.S. EPA. SW. 846, U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC., 1996)에 따라 브롬화칼륨 3.75g, 포화 브롬수(5 mL)를 첨가하고 상기 용액의 pH가 2가 되도록 브롬산을 첨가하여 브롬화 유도체를 만들었다. 상기 반응액을 4℃에서 하룻밤 동안 방치한 후 황색이 없어질 때까지 1M의 티오황산나트륨을 수 방울 첨가하여 과잉으로 존재하는 브롬을 분해시켜 제거하였다. 그 다음으로 반응 용액을 5mL의 에틸아세테이트로 3회 추출하였으며, 이 추출물을 감압농축기로 약 2.5mL가 될 때까지 농축하였다. 상기 농축물 0.5~1mL를 취하고 질소를 유입하여 용매를 완전히 날려보낸 다음 여기에 다시 에틸아세테이트 10~15μL를 첨가하여 용해한 후 분석용 시료로 사용하였다.

<40> 상기 분석용 시료 1~2μL를 GC-MS의 인젝터(온도 250℃)에 정확히 주입하여 분석을 수행하였다. 이때, GC 분석용 칼럼으로는 PE-5 칼럼(PERKIN ELMER, 30m × 0.25mm, 0.25μm)을 사용하였으며, 분석시 온도는 다음과 같이 조절하였다. 1분 동안 65℃의 온도를 유지하고, 15℃/min의 속도로 250℃까지 온도를 상승시킨 다음, 10분 동안 250℃의

온도를 유지하였다. 측정된 결과의 분석은 전자 이온화(70 eV)와 선택 이온 모니터링을 사용하여 수행하였다. 분석물인 2,3-디브로모프로피온아미드의 동정과 정량을 위해 모니터한 이온들은 m/z 150($[C_3H_5^{79}BrNO]^+$)과 152($[C_3H_5^{81}BrNO]^+$)등 이었으며, 내부 표준 물질인 *N,N*-디메틸아크릴아미드는 2,3-디브로모-*N,N*-디메틸프로피온아미드로 브롬화하였고 동정과 정량을 위해 모니터한 이온들은 m/z 178($[C_5H_9^{79}BrNO]^+$)과 180($[C_5H_9^{81}BrNO]^+$)등 이었다.

<41> 실험 결과, pH가 낮아질수록 아크릴아미드의 생성이 현저하게 감소되는 것으로 나타났다. 즉, pH 8.0일 때 아스파라긴 1mol 당 아크릴아미드의 생성량은 1,455mg으로 가장 많이 생성되었으며, pH 7.0에서는 1,413mg, pH 6.0에서 377mg, pH 5.0에서 47mg, pH 4.0에서는 13mg이 생성되었다. pH 7.0일 때 GC-MS에 의해 측정된 아크릴아미드와 내부표준 물질의 크로마토그램은 도 1에 나타낸 바와 같다. 또한, 아크릴아미드의 생성 억제율을 하기 식에 의해 계산한 결과, pH 7.0일 때 2.9%, pH 6.0일 때 74.1%, pH 5.0일 때 96.8%, pH 4.0일 때 99.1%였다(표 1).

<42> 아크릴아미드 생성 억제율 = $(\text{pH 8에서 생성된 아크릴아미드의 양} - \text{각 pH에서 생성된 아크릴아미드의 양}) \div \text{pH 8에서 생성된 아크릴아미드의 양} \times 100$

<43> 【표 1】

pH에 따른 생성된 아크릴아미드의 양 및 아크릴아미드의 생성 억제율		
pH	생성된 아크릴아미드의 양(mg/mol 아스파라긴)	아크릴아미드 생성 억제율(%)
8.0	1455	-
7.0	1413	2.9
6.0	377	74.1
5.0	47	96.8
4.0	13	99.1

<44> 상기 결과로부터 pH를 저하시킴으로써 효과적으로 아크릴아미드의 생성을 억제할 수 있음을 확인할 수 있었다. 이에, 본 발명자들은 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제방법을 식품에 직접 적용함으로써 식품 내 아크릴아미드의 생성이 억제되는지의 여부를 확인하였다.

<45> <실시예 2>

<46> pH 강하제의 첨가에 의한 튀긴 콘칩 내 아크릴아미드 생성 억제 효과

<47> 콘 글리츠(옥수수를 1mm 이하의 크기로 거칠게 분쇄한 것) 500g에 각각 0.1% 또는 0.2% 구연산 용액 500mL를 가하여 혼합한 다음 121℃에서 60분간 스티밍하였다. 이때, 대조군에는 구연산 용액 대신 증류수 500mL를 첨가하였다. 상기 혼합물의 pH를 pH 측정기로 측정한 다음 냉각한 후 압연 롤러에 수 차례 통과시켜 1mm 두께의 면대를 제조하고, 이를 2×2cm 크기로 절단하여 상온에서 건조시켰다. 상기 건조물을 180℃의 옥수수기름에서 30초간 후라이하여 콘칩을 제조하였다.

<48> 상기와 같은 방법으로 제조된 각각의 콘칩 10g과 물 50mL를 균질기로 혼합하여 균질화한 다음, PVDF 멤브레인(Milipore, 0.45 μ m)으로 여과하였다. 상기 여과물을 그래파이트드 카본 블랙 칼럼(Alltech, Extract-Clean column Carbondgraph)으로 정제하였다. 정제된 시료를 이용하여 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 아크릴아미드의 생성량을 분석하였다.

<49> 실험 결과, 증류수, 0.1% 구연산용액, 및 0.2% 구연산용액을 첨가한 콘글리츠의 pH는 각각 5.7, 4.5 및 4.2 이었다. 즉, 콘글리츠에 0.1% 또는 0.2% 구연산 용액을 첨가함으로써 콘글리츠의 pH가 증류수를 첨가한 경우에 비해 1.2 또는 1.5 정도 낮아졌음을 알 수 있었다.

<50> 생성된 아크릴아미드의 양은 증류수 500mL를 첨가한 대조군의 경우 125ppb(parts per billion), 0.1% 구연산 용액 500mL를 첨가한 경우 63ppb, 0.2% 구연산 용액 500mL를 첨가한 경우에는 22ppb였다. 상기 실험 결과로부터 하기식에 의해 아크릴아미드의 생성 억제율을 계산한 결과, 0.1% 구연산 용액을 첨가한 경우에는 49.6%였으며, 0.2% 구연산 용액을 첨가한 경우에는 82.4%였다(표 2). 따라서, 구연산의 첨가량이 많을수록 다시 말해 pH가 낮을수록 아크릴아미드 생성 억제율이 높게 나타남을 알 수 있었다.

<51> 아크릴아미드 생성 억제율 = (증류수를 첨가한 경우에 생성된 아크릴아미드의 양 - 구연산 용액을 첨가한 경우에 생성된 아크릴아미드의 양) ÷ 증류수를 첨가한 경우에 생성된 아크릴아미드의 양 × 100

<52> 【표 2】

튀긴 콘칩 내 생성된 아크릴아미드의 양 및 아크릴아미드 생성 억제율

	첨가량(mL)	생성된 아크릴아미드의 양(ppb)	아크릴아미드 생성 억제율(%)
증류수 첨가	500	125	-
0.1% 구연산 첨가	500	63	49.6
0.2% 구연산 첨가	500	22	82.4

<53> <실시예 3>

<54> 본 발명에 따라 pH 강하제를 첨가하여 제조한 튀긴 콘칩의 관능평가

<55> 상기 실시예 2의 구연산을 첨가하여 제조한 튀긴 콘칩의 풍미 및 색상을 증류수를 첨가하여 제조한 튀긴 콘칩과 비교하였다.

<56> 상기 콘칩의 풍미는 두 시료간의 차이 유무를 식별하도록 하는 차이식별검사 (discriminative test)를 사용하여 관능검사 요원 10명을 대상으로 실시하였다. 콘칩의 색상은 육안으로 관찰하여 비교하였다.

<57> 실험 결과, 구연산 첨가에 의한 콘칩의 풍미의 변화는 거의 없었다. 다만, 0.2% 구연산을 첨가한 경우에 색상이 약간 밝아지는 경향이 있었다. 따라서, 본 발명의 방법에 따라 식품에 pH 강하제를 처리하여도 식품의 풍미에는 영향을 주지 않음을 알 수 있었다

<58> <실시예 4>

<59> pH 강하제의 첨가에 의한 구운 콘칩 내 아크릴아미드 생성 억제 효과

<60> 콘 글리츠 500g에 0.1% 또는 0.2% 구연산 용액 500mL를 각각 가하여 혼합하고 121℃에서 60분간 스티밍하였다. 이때 대조군에는 구연산 용액 대신 증류수 500mL를 가하여 혼합하였다. 냉각한 후 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 면대를 제조하고 건조시켰다. 건조물을 255℃의 오븐에서 1분 40초간 가열함으로써 콘칩을 제조하였다. 또한, 상기 건조물 중에서 0.2% 구연산 용액을 처리한 콘 글리츠를 255℃의 오븐에서 2분간 가열하는 방법으로도 콘칩을 제조하였다. 상기 제조된 콘칩 내 아크릴아미드의 생성량은 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 시료를 정제한 다음 실시예 1과 동일한 방법으로 분석하였다.

<61> 실험 결과, 255℃ 오븐에서 1분 40초간 가열하여 제조한 콘칩의 경우 생성된 아크릴아미드의 양은 증류수 500mL를 첨가한 대조군의 경우 151ppb, 0.1% 구연산 용액 500mL를 첨가한 경우 63ppb, 0.2% 구연산 용액 500mL를 첨가한 경우에는 41ppb였다. 상기 실험 결과로부터 상기 실시예 1의 계산식에 의해 아크릴아미드의 생성 억제율을 계산한 결과, 0.1% 구연산 용액을 첨가한 경우에는 58.2%였으며, 0.2% 구연산 용액을 첨가한 경우에는 72.8%였다(표 3). 따라서, 구연산의 첨가량이 많을수록 즉, pH가 낮을수록 아크릴아미드 생성 억제율이 높게 나타남을 알 수 있었다. 0.2% 구연산 용액을 첨가한 콘 글리츠를 255℃ 오븐에서 2분간 가열하여 콘칩을 제조한 경우에는 생성된 아크릴아미드의 양이

67ppb로, 1분 40초간 가열한 콘칩에 비하여 생성된 아크릴아미드의 양이 다소 많아졌으나, 무처리구에 비해서는 현저히 낮았다.

<62> 【표 3】

구운 콘칩 내 생성된 아크릴아미드의 양 및 아크릴아미드 생성 억제율

가열시간	처 리	첨가량 (mL)	생성된 아크릴아미드의 양 (ppb)	아크릴아미드 생성 억 제율(%)
1분 40초	중류수 첨가	500	151	-
1분 40초	0.1% 구연산 첨가	500	63	58.2
1분 40초	0.2% 구연산 첨가	500	41	72.8
2분	0.2% 구연산 첨가	500	67	55.6

<63> <실시예 5>

<64> 본 발명에 따라 pH 강하제를 첨가하여 제조한 구운 콘칩의 관능평가

<65> 상기 실시예 4에서 제조한 구연산을 첨가하여 구운 콘칩의 관능평가를 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 조사하였다.

<66> 실험 결과, 구운 콘칩의 경우에도 구연산 첨가에 의한 풍미의 변화는 거의 없었으며, 0.2% 구연산을 첨가한 경우에 색상이 약간 밝아지는 경향이 있었다. 따라서, 본 발명의 방법에 따라 식품에 pH 강하제를 처리하여도 식품의 풍미 및 색상에 영향을 주지 않음을 알 수 있었다.

<67> <실시예 6>

<68> pH 강하제의 처리에 의한 감자 튀김 내 아크릴아미드의 생성 억제 효과

<69> 튀김용 감자를 8mm×8mm×50mm의 크기로 절단하고, 표면에 묻어 있는 감자 전분을 증류수로 세척한 다음 증류수, 1% 구연산 용액 또는 2% 구연산 용액에서 각각 1시간씩 침지하였다. 이때, 침지 전 감자즙액의 pH와 증류수, 1% 구연산 용액 및 2% 구연산 용액에 각각 침지한 감자즙액의 pH를 pH 측정기로 측정하였다. 그 다음 상기 감자를 190℃ 옥수수기름에서 6분 30초간 튀겨서 감자 튀김(프렌치 후라이)을 제조하였다. 이때, 대조군으로는 감자를 증류수로만 세척한 후 침지과정 없이 상기와 동일한 방법으로 감자 튀김을 제조하였다. 상기 감자 튀김 내 아크릴아미드의 함량은 상기 실시예 2와 동일한 방법으로 시료를 정제한 다음 상기 실시예 1과 동일한 방법으로 분석하였다.

<70> 실험 결과, 침지전 감자즙액의 pH는 6.2였으며 증류수, 1% 구연산 용액 및 2% 구연산 용액에 침지시킨 감자즙액의 pH는 각각 6.2, 5.2 및 4.9였다. 이로부터 감자를 증류수에 침지한 경우에는 감자의 pH에 영향을 주지 않음을 알 수 있었으며, 1% 또는 2% 구연산 용액에 감자를 침지시킨 경우에는 감자의 pH가 원래 pH에 비해 1 또는 1.3 정도 낮아졌음을 알 수 있었다.

<71> 생성된 아크릴아미드의 양은 침지과정을 거치지 않은 대조군의 경우 796ppb, 증류수에 침지한 경우 646ppb, 1% 구연산 용액에 침지한 경우 214ppb, 2% 구연산 용액에 침지한 경우는 162ppb였다. 상기 실험 결과로부터 아크릴아미드 생성 억제율은 하기 식에 의해 계산하였다. 그 결과, 아크릴아미드 생성 억제율은 증류수에 침지한 경우 24.9%, 1% 구연산 용액에 침지한 경우 73.1% 및 2% 구연산에 침지한 경우 79.7%로 나타났다(표 4). 따라서, 감자 튀김의 경우에도 pH가 낮을수록 아크릴아미드 생성 억제율이 높게 나타남

을 알 수 있었다. 또한, 감자를 중류수에만 침지한 경우, 아크릴아미드 생성 억제율이 25%로 나타났는데 이는 감자 표면층의 상층부에 존재하던 당류와 아스파라긴 등이 중류수에 용출되어 제거되었기 때문으로 추정되었다.

<72> 아크릴아미드 생성 억제율 = (대조군에서 생성된 아크릴아미드의 양 - 각 실험군에서 생성된 아크릴아미드의 양) ÷ 대조군에서 생성된 아크릴아미드의 양 × 100

<73> 【표 4】

감자 튀김 내에 생성된 아크릴아미드의 양 및 아크릴아미드 생성 억제율

	생성된 아크릴아미드의 양(ppb)	아크릴아미드 생성 억제율(%)
대조군	796	-
중류수 침지	646	24.9
1% 구연산 용액 침지	214	73.1
2% 구연산 용액 침지	162	79.7

<74> <실시에 7>

<75> 본 발명에 따라 pH 강하제로 침지 처리하여 제조한 감자 튀김의 관능평가

<76> 상기 실시예 6의 pH 강하제로 침지 처리하여 제조한 감자 튀김의 관능평가를 상기 실시예 3과 동일한 방법으로 실시하였다.

<77> 실험 결과, 1% 구연산 용액에 침지시켜 제조한 감자 튀김의 경우에는 풍미 및 색상의 변화가 없었으며, 2% 구연산에 침지한 경우 색상에는 전혀 변화가 없었으나, 풍미에 있어서 약간의 신맛이 감지되었다. 따라서 감자튀김의 경우에는 풍미에 영향을 주지 않는

구연산용액의 농도는 2%이하인 것으로 확인되었다. 그러나, 구운콘칩과 튀긴콘칩의 경우에는 0.2%구연산 첨가시에는 전혀 풍미에 영향을 미치지 않았다. 따라서 본 발명의 방법에 따라 식품에 적정량으로 pH강하제를 처리할 경우 풍미에 영향을 주지 않고 아크릴아미드를 현저히 억제할 수 있음을 알 수 있었다.

【발명의 효과】

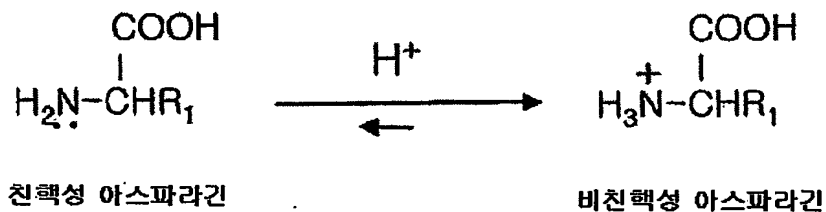
<78> 이상, 상기 실시예를 통하여 설명한 바와 같이 본 발명의 아크릴아미드 생성 억제방법은 아크릴아미드의 생성을 높은 수준으로 억제할 수 있는 효과가 있다. 특히, 본 발명에 따른 방법을 식품에 적용할 경우, 식품의 풍미와 색상은 영향을 주지 않으면서도, 아크릴아미드의 생성을 높은 수준으로 억제할 수 있는 효과가 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

아스파라긴의 친핵성 아미노기(-NH₂)를 하기 반응식 2와 같이 양성자화하여 비친핵성 아민(-NH₃⁺)으로 전환시키는 단계를 포함하는 아크릴아미드 생성 억제방법.

반응식 2



상기 식에서 R₁은 $-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{NH}_2$ 이다

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 친핵성 아미노기의 양성자화는 pH 강하제를 처리함으로써 수행하는 것임을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 3】

제2항에 있어서, 상기 pH 강하제를 식품에 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 억제 방법.

【청구항 4】

제3항에 있어서, 상기 pH 강하제는 식품을 가열처리 하기 전에 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 5】

제4항에 있어서, 상기 가열처리는 튀기기, 굽기, 볶기, 고온 압출 및 고온 사출 처리 중에서 선택되는 것임을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 6】

제3항에 있어서, 상기 식품이 아미노산과 당분을 함유하고 있는 것임을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 7】

제6항에 있어서, 상기 식품이 탄수화물 식품인 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 8】

제3항에 있어서, 상기 pH 강하제는 식품의 pH가 식품의 원래 pH 보다 0.1~3이 저하되도록 처리하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 9】

제3항에 있어서, 상기 pH 강하제는 식품에 0.01~10.0중량%의 농도로 첨가하는 것을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 10】

제3항에 있어서, 상기 pH 강하제는 유기산, 유기산염, 유기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액, 무기산, 무기산염, 무기산 또는 이의 염을 함유하는 완충용액, 과즙 및 이들의 혼합물 중에서 선택됨을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 11】

제10항에 있어서, 상기 유기산은 구연산, 사과산, 초산, 젖산, 호박산, 주석산, 아스코르브산 및 아디핀산 중에서 선택됨을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 12】

제10항에 있어서, 상기 무기산은 인산 또는 피로인산임을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 13】

제10항에 있어서, 상기 완충용액은 인산나트륨 완충용액, 인산칼륨 완충용액 및 구연산-구연산나트륨 완충용액 중에서 선택되는 것임을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【청구항 14】

제10항에 있어서, 상기 과즙은 레몬, 매실, 살구, 유자 및 라임 중에서 선택됨을 특징으로 하는 아크릴아미드 생성 억제 방법.

【도면】

【도 1】

